

## CITOKINI I HEMOKINI U ASTMI

Miloš FILIPOVIĆ, Stojan RADIĆ i Boris ĐINĐIĆ

*Zavod za plućne bolesti Kliničkog centra i Institut za patološku fiziologiju  
Medicinskog fakulteta u Nišu*

Citokini su regulatorni proteini niske molekulske težine, čija je uloga u međucelijskoj komunikaciji. Citokini ispoljavaju sledeće karakteristike: pleiotropnost, sinergizam, antagonizam, suvišnost, kao i autokrino, parakrino i endokrino delovanje. Delovanje jednog citokina može da pokrene oslobađanje drugog citokina. Zato što je astma imunološka bolest citokini imaju jedinstvenu ulogu u regulaciji zapaljenjskog procesa koji nastaje u plućima. Različiti citokini deluju u složenoj mreži koja određuje prirodu i hronicitel astmatičnog zapaljenjskog procesa. Th<sub>2</sub> limfociti sintetišu IL-4, IL-5, IL-9, IL-10, IL-13 i GM-CSF koji učestvuju u procesu pre uključivanja izotipa imunoglobulina B-ćelija s produkcijom IgE, održavanju populacije Th<sub>2</sub> ćelija s pojačanom produkcijom citokina koje kodira tzv. IL-4 genska grupa, kao i privlačenje i produženje preživljavanja mast ćelija, bazofila i eozinofila. Hemokini su mali proteini koji su klasifikovani u četiri podklase: CC, CXC, C i CX<sub>3</sub>C na osnovu položaja prva dva cisteina u svojim sekvencama. Članovi CC podklase hemokina dovode do privlačenja i aktivacije bazofila, eozinofila, monocita i T-limfocita, kao i degranulacije bazofila i mast ćelija nezavisno od IgE-mehanizma.

*Cljučne reči:* citokini, hemokini, astma, Th<sub>2</sub> limfociti, eozinofili

### Uvod

Astma je kompleksna bolest u kojoj delovanjem genetskih i faktora spoljašnje sredine nastaje specifičan tip zapaljenja u disajnim putevima, s nakupljanjem eozinofila, mastocita, makrofaga, kao i polarizacijom T-ćelijskog imuniteta u pravcu pojačane produkcije citokina koji su kodirani od grupe gena lociranih na dugom kraku 5. hromozoma (*Holgate, 1999*). Citokini su regulatorni proteini niske molekulske težine čija je uloga u međucelijskoj komunikaciji. Vezivanjem za specifične receptore citokini pokreću putove prenošenja signala što ima za posledicu promenu ekspresije gena u ciljnoj ćeliji. Visoki afinitet receptora i citokina (konstanta disociacije se kreće od 10<sup>-10</sup> -10<sup>-12</sup> M) obezbeđuje da citokini i u pikomolarnim koncentracijama ispolje odgovarajući biološki efekat (*Kuby, 1997*). Citokini se odlikuju sledećim karakteristikama:

1. Autokrino dejstvo - predstavlja direktno dejstvo na ćeliju koja ih je izlučila.

2. Parakrino dejstvo - predstavlja delovanje na ćelije u neposrednoj blizini.

3. Endokrino dejstvo - predstavlja efekat na udaljene ćelije i organe.

4. Pleiotropnosf - predstavlja ispoljavanje različitih efekata na različitim ćelijama.

5. Antagonizam - predstavlja inhibiciju ili prekidanje efekata koji su pokrenuti drugim citokinom.

6. Sinergizam-kombinovano dejstvo dva citokina ispoljava efekat koji je znatno veći nego zbir njihovih pojedinačnih efekata.

7. Suvišnost - predstavlja pojavu da dva ili više citokina ispoljavaju identične biološke efekte.

8. Veoma je česta pojava da se delovanjem jednog citokina pokreće sinteza i oslobađanje drugih citokina (*Peakmen and Vergani, 1997*).

Obezbeđujući komunikaciju između različitih ćelija, čineći na taj način kompleksnu mrežu, citokini utiču na brojne ćelijske funkcije kao što su: rast, proliferacija, diferencijacija, hamotaksija i pokretanje procesa preuključivanja izotipa imunoglobulina.

Citokoni se najčešće svrstavaju u sledeće grupe (*Borish and Rosenwaser, 1996*):

1. Grupa citokina, tzv. monokini, koju produkuju primarno mononuklearni fagociti obuhvata: Faktor nekroze tumora (TNF), Interleukin-1 (IL-1), IL-6, IL-12, IL-15, i Hemokine.

2. Grupa citokina koji učestvuju u aktivaciji citotoksičnog imuniteta obuhvata: Interferon-alfa (IFN-a), IFN-b IFN-g IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-10, IL-11, IL-12 i IL-15.

3. Grupa citokina koji su pokretači humoralnog imuniteta obuhvata:

a. IL-7 i IL-1 od značaja za sazrevanje B-ćelija u koštanoj srži,

b. IL-4, IL-13, IL-10 i Transformišući faktor rasta - beta (TGF- $\beta$ ) od značaja za pokretanje procesa preuključivanja izotipa imunoglobulina, i

c. IL-1, IL-2, IL-5, IL-6, IL-12, IL-14, IL-15 i IFN $\gamma$  od značaja za maturaciju B-ćelija.

4. Grupa citokina obuhvata faktore rasta stimulacije kolonija i faktore rasta:

a. Eritropoietin (EPO) učestvuje u stimulaciji, diferencijaciji i rastu eritroidnih progenitorskih ćelija. Sinergistički sa IL-3, IL-9 i IL-1 učestvuje u produkciji zrelih eritroidnih ćelija.

b. Faktor stimulacije rasta kolonija granulocita (G-CSF) pojačava produkciju i ubrzava mutaciju i diferencijaciju neutrofila.

c. Faktor stimulacije rasta kolonija makrofaga (M-CSF) pokreće diferencijaciju i proliferaciju monocita iz prekursorskih ćelija koštane srži i vrši aktivaciju monocita i makrofaga.

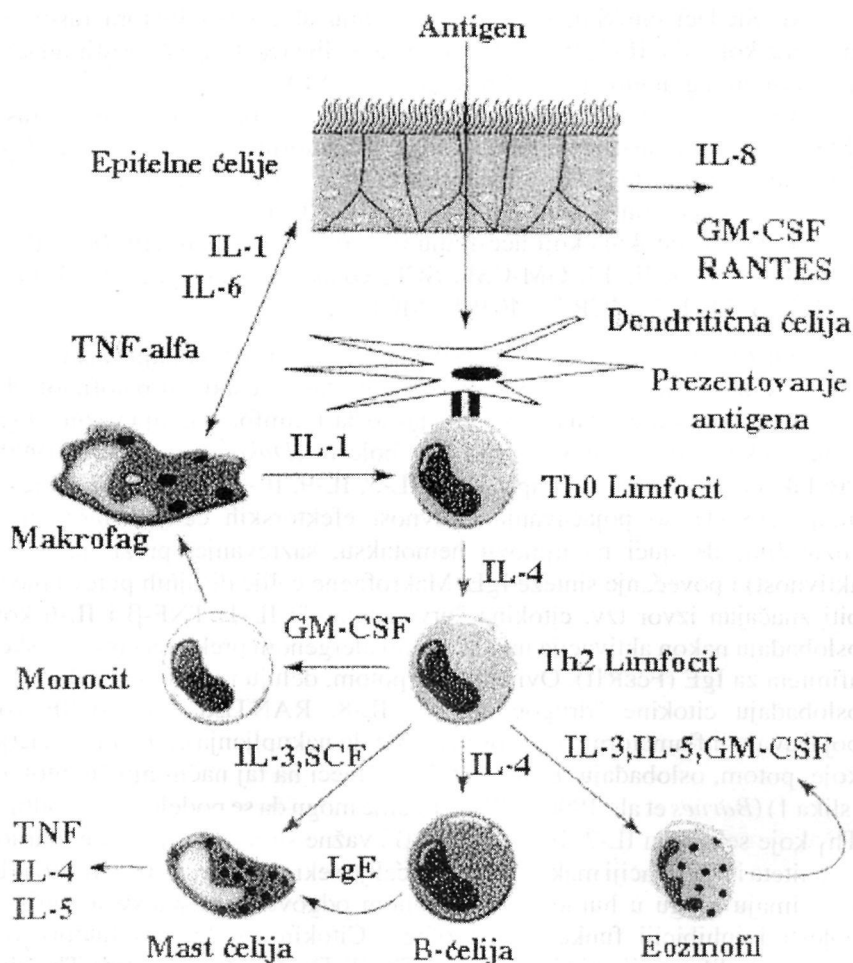
d. Sledeći citokini, takođe, ispoljavaju aktivnosti faktora rasta stimulacije kolonija: IL-3, IL-11, Faktor stem ćelija (SCF) i Faktor stimulacije rasta kolonija granulocita i makrofaga (GM-CSF).

Od faktora rasta značajnu ulogu imaju: Trombocitni faktor rasta (PDGF), Faktor rasta endotelnih ćelija, Transformišući faktor rasta, Epidermalni faktor rasta (EGF) i Faktor rasta sličan insulinu (IGF).

5. Grupa antiinflamatornih citokina: IL-10 i TGF- $\beta$

6. Grupa citokina koji učestvuju u alergijskom imunitetu: IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-13, GM-CSF, SCF, eotaksin, eotaksin 2, eotaksin 3. RANTES, MCP-2, MCP-3, MCP-5 i MCP-1a.

Obzirom da je astma imunološki poremećaj, citokini imaju važnu ulogu u regulaciji zapaljenjskog procesa koji predstavlja osnovnu patofiziološku karakteristiku astme. Danas je sasvim jasno da T-limfociti imaju važnu ulogu u nastanku i održavanju alergijskih bolesti (*Đukanović et al., 1990*). Produkcijom citokina Th<sub>2</sub> tipa: IL-4, IL-5, IL-9, IL-13 i GM-CSF T-ćelije imaju dovode do pojačavanja aktivnost efektorskih ćelija (mastocita i eozinofila) delujući na njihovu hemotaksu, sazrevanje, preživljavanje i aktivnost) i povećanje sinteze TgE. Makrofagne ćelije disajnih puteva mogu biti značajan izvor tzv. citokina "prvog talasa": IL-1, TNF-b i IL-6 koje oslobađaju nakon aktivacije inhalacionim alergenom preko receptora niskog afiniteta za IgE (FceRTT). Ovi citokini, potom, deluju na epitelne ćelije koje oslobađaju citokine "drugog talasa": IL-8, RANTES i GM-CSF koji pojačavaju inflamatorni odgovor i dovode do nakupljanja ćelija inflamacije, koje, potom, oslobađaju brojne citokine čineći na taj način mrežu citokina (slika 1) (*Barnes et al., 1990*). CD4+T ćelije mogu da se podelje u dva podtipa: Th<sub>1</sub> koje sekretuju IL-2, IFN-g i INF-b i važne su u reakcijama celularnog imuniteta i u aktivaciji makrofaga i Th<sub>2</sub> ćelije sekretuju IL-4, IL-5, IL-10 i IL-13 i imaju ulogu u humoralnom imunom odgovoru, nastanku alergijskih bolesti i inhibiciji funkcije makrofaga. Citokini su ključni faktori koji konirolišu diferencijaciju Th<sub>0</sub> ćelija u Th<sub>1</sub> ili Th<sub>2</sub> fenotip. Oba tipa Th ćelija potiču od istog prekursora koji izlučuje samo IL-2, koji kroz niz faza diferencijacije u odgovoru na prezentovani antigen prelaze u Th<sub>0</sub> ćelije, koje izlučuju mešavinu citokina: IL-2, IL-4 i IFN- $\gamma$ . Ukoliko je antigena stimulacija dugotrajna i intenzivnog stepena CD<sub>4</sub><sup>+</sup>Th<sub>0</sub> ćelije će se onda diferencirati u polarizovane Th<sub>1</sub> ili Th<sub>2</sub> ćelije (*Umetsu and De Kruyff, 1997*). Rano prisustvo IL-4 je najsnažniji stimulus za diferencijaciju Th<sub>0</sub> u Th<sub>2</sub> ćelije, dok prisustvo IL-2 i IFN- $\gamma$  favorizuje razvoj Th<sub>1</sub> ćelija (*Abbas et al., 1996*). Osim citokina, i drugi faktori kao što su: put ulaska antigena, fizikalna forma antigena, tip antigen prezentujuće ćelije, doza antigena, prisustvo adjuvanasa i genetski faktori imaju ulogu u polarizaciji Th<sub>1</sub>/Th<sub>2</sub> odgovora (*Romagnani, 1998*). Naivne Th<sub>0</sub> ćelije nakon stimulacije antigenom proizvode male količine IL-4. Sa povećanjem ćelijske aktivacije raste i nivo



Slika 1. Mreža citokina u astmi

produkcije IL-4 koji nakon dostizanja određene pragne vrednosti dovodi do diferencijacije u Th<sub>2</sub> tip. IL-6 kojeg sintetizira APC u stanju je da polarizuje diferencijaciju u Th<sub>2</sub> pravcu tako što indukuje produkciju IL-4 od strane CD<sub>4</sub><sup>+</sup>T ćelija. PGE<sub>2</sub> inhibicijom produkcije IL-12 od strane dendritičnih ćelija i IFN- $\gamma$  od strane T ćelija favorizuje Th<sub>2</sub> diferencijaciju. Vezivanjem IL-4 za receptor na Th<sub>0</sub> ćeliji nastaje brza fosforilacija faktora za prenošenje signala među kojima je najvažniji STAT 6 (prenosilac signala i aktivator transkripcije-6), koji ima kritičnu ulogu u Th<sub>2</sub> diferencijaciji (Romagnani, 1997). Tako nije poznat rani izvor IL-4, noviji podaci ukazuju na bazofile koji su u stanju da produkuju velike količine IL-4 nakon antigen-specifične i

nespecifične stimulacije (*Haas et al., 1999*). Osim  $CD_4^+$  T ćelija, u disajnim putevima astmatičara su prisutne i aktivisane  $CD8^+$  T ćelije (ekspiruju CD25), koje izlučuju povećane količine IL-4, IL-5 i IL-13, tzv.  $Tc_2$  ćelije, što rezultuje povećanjem sinteze IgE i nastankom alergijske inflamacije (*Kalish and Askenase, 1999*). Opisan je i treći tip, tzv.  $Th_3$  ćelije, koje proizvode TGF- $\beta$  sa snažnim inhibitornim osobinama. Ove ćelije su poznate i kao "regulatorne / supresorske"  $Th_2$  ćelije (*Umetsu and De Kruyff, 1997*). U periodu nakon rođenja favorizovan je  $Th_2$  odgovor što najverovatnije predstavlja prenešeno stanje iz fetalnog perioda kada  $Th_2$  predstavlja adaptivni mehanizam kojim se štiti integritet placente od toksičnih efekata  $Th_1$  citokina. Karakteristično za atopijske osobe je nemogućnost prekidanja antigen specifičnog  $Th_2$  odgovora koji je nastao još intrauterino, pojačava se i konsoliduje i ima za posledicu razvoj atopijskih bolesti (*Holt et al., 1999*). Smatra se da su glavni izvori signala maturacije  $Th_1$  odgovora respiratorne virusne infekcije i lipopolisaharidi (LPS) bakterija crevne flore. Isključivanjem ovih stimulusa (sterilizacija namirnica, upotreba antibiotika širokog spektra i vakcinisanje) imunološki sistem se održava u stanju  $Th_2$  odgovora (*Martinez and Holt, 1999*). Diferencijacija u  $Th1$  pravcu zahteva rano prisustvo IL-12 i IFN- $\gamma$ . IL-12 deluje putem aktivacije STAT 4.

Tri ključne karakteristike astme: pojačana produkcija IgE, eozinofilija i aktivacija mast ćelija nalaze se pod kontrolom citokina.

### A. Regulacija sinteze IgE

Sklonost organizma da proizvodi velike količine IgE u odgovoru na ekspoziciju alergenima iz spoljašnje sredine definiše atopiju. Atopiju određuje prisustvo jednog od sledeća tri indeksa:

1. Povišeni nivo ukupnog TgE u semmu.
2. Prisustvo alergen specifičnih IgE u serumu, i
3. Pozitivan rezultat kožnog prick testa na standardne inhalacione alergene.

Klinički, atopija može da se manifestuje kao astma, alergijski rinokonjunktivitis, atopijski ekcem, urtikarija i alergija na hranu.

Prisustvo povišenih koncentracija IgE je centralna pojava u atopiji. Sinteza IgE je tesno regulisana i nalazi se pod kontrolom recipročne aktivnosti  $Th_1$  i  $Th_2$  citokina (IL-4, IL-13 i IFN- $\gamma$ ), kao i direktnog kontakta B-ćelije sa drugim ćelijama (T-limfocit i mast ćelije) preko CD40-CD40 liganda (CD40L) (*Huang, 1998*).

#### *Interleukin-4 (IL-4)*

IL-4 je glikoprotein molekulske mase 18-20 kd i sastoji se od 153 amino kiselina.

Glavni izvori IL-4 su T ćelije ( $Th_0$  i  $Th_2$ ) mast ćelije, bazofili i eozinofili. IL-4 ispoljava pleiotropne efekte:

1. Upravlja procesom diferencijacije  $Th_2$  ćelija.

2. Delovanjem na B-ćelije dovodi do pojačane produkcije TgE i TgG<sub>4</sub> antitela, ushodno reguliše ekspresiju CD23, MHC molekule II klase, receptor za IL-4 (IL-4R), CD40. receptor za IL-2 (IL-2R), B7. i i B7.2 molekule što čini B-ćelije efikasnijim antigen prezentujućim ćelijama (APC). Nakon interakcije nativnog antigena sa receptorom za antigen koji je lociran na površini B-limfocita APC, dolazi do preuzimanja i prerade antigena, koji u sklopu kompleksa antigeni peptid - MHC molekul II klase biva eksprimovan na površini B-ćelije (*Bonnefoy et al., 1996*). APC ćelije ovaj kompleks, potom, prezentuju specifičnom T-ćelijskom receptoru (TCR) koji se nalazi na površini  $Th_2$  (ili  $Th_0$ ) limfocita. Kontaktom antigena sa TCR / CD3 kompleksom dolazi do prenosa aktivacionog signala u unutrašnjost ćelije što dovodi do ekspresije CD 40 liganda (CD40L) na površini T limfocita. Nakon reagovanja CD40L sa CD40 molekulom koji se nalazi na površini B ćelije dolazi do prenosa aktivacionih signala što ima za posledicu transkripciju u translaciju gena za IL-4 i IL-13. Aktivirane  $Th_2$  ćelije pojačano proizvode IL-4 i IL-13 koji deluju na antigen specifične B-ćelije što ima za posledicu pokretanje procesa preuključivanja imunoglobulinskog izotipa sa IgM na TgE. Za sintezu zrelog s transkripta što je omogućeno rekombinacijom e gena, neophodno je prisustvo tzv. "sekundarnog signala" koji je obezbeđen interakcijom CD40L na površini  $Th_2$  ćelije i CD40 molekula na površini B-ćelije (*Hershey et al., 1997; Barnes and Marsh, 1998*). Osim toga, izlučeni IL-4 i IL-13 ispoljavaju efekat pozitivne povratne sprege sa favorizovanjem razvoja  $Th_2$  fenotipa. Važno je naglasiti da stimulacija ćelije FcsRI mehanizmom (mastociti i bazofili) pokreće oslobađanje IL-4 i ekspresiju CD40L na površini ovih ćelija što dovodi do dalje sinteze TgE i održavanja produkcije ćelija  $Th_2$  fenotipa (*Barnes and Marsh, 1998*). Efekat sinteze IgE pojačan je delovanjem i drugih citokina: IL-5, IL-10 i TNF- $\alpha$ .

3. Delovanjem na endotelne ćelije dovodi do povećane ekspresije vaskularnog ćelijskog adhezivnog molekula-1 (VCAM-1), što ima za posledicu nakupljanje ćelija inflamacije (eozinofila, bazofila i monocita) u disajnim putevima.

4. Delovanjem na eptiel disajnih puteva dovodi do metaplazije peharastih ćelija i hipersekrecije sluzi (*Hamid and Minshall, 2000*).

### *Interleukin-13 (IL-13)*

Interleukin-13 ima molekulsku masu 12 kd i sastoji se od 132 amino kiseline. Iako ispoljava približno 25-30% homologije sa IL-4, IL-13 deli mnogobrojne funkcionalne karakteristike sa IL-4 što je određeno zajedničkom komponentom receptora za ova dva citokina. Glavni izvor IL-

13 su aktivisane Th<sub>2</sub> ćelije, mada Th<sub>0</sub> i CD8+ T ćelije takođe, proizvode značajne količine ovog citokina. Za razliku od IL-4 ne deluje na T-ćelije. Indirektno putem inhibicije IL-12 utiče negativno na Th<sub>1</sub> diferencijaciju. IL-13 može da pokrene sintezu TgE nezavisno od IL-4 (*De Vries and Carhallido, 1999*).- Od ostalih efekata, IL-13 dovodi do povećane ekspresije VCAM-1 na površini endotela, vrši aktivaciju eozinofila, dovodi do povećanja nivoa bronhijalne hiperreaktivnosti i povećava sekreciju sluzi u disajnim putevima (*Corry, 1999*).

#### *Interferon-gama (IFN- $\gamma$ )*

JFN- $\gamma$  čiji su glavni izvor limfociti funkcioniše kao inhibitor alergijskog odgovora. Delovanjem IL-12 i IL-18 koji pokreću produkciju IFN-g. dolazi do inhibicije sinteze IgE. Osim inhibicije sinteze IgE. IFN-g dovodi i do inhibicije ekspresije receptora niskog afiniteta za IgE (*Suzanne Fishman et al.. 1996*).

### **B. Eozinofilija**

Jedna od karakterističnih osobina alergijske inflamacije je nakupljanje aktivisanih eozinofila u zahvaćenim tkivima. Povećanje broja eozinofila pokazuje selektivnost jer nije praćena istovremenim povećanjem broja neutrofila. Ova činjenica predstavlja osnovu savremene hipoteze koja ukazuje na centralnu ulogu medijatora eozinofila u nastanku astme i drugih atopijskih bolesti (*Warcllaw, 1999*).

### **IL-3, IL-5 I GM-CSF**

Eozinofili nastaju delovanjem IL-3, IL-5 i GM-CSF na CD34<sup>+</sup> prekursorske ćelije u koštanoj srži. IL-3 i GM-CSF deluju na rane prekursorske ćelije, dok IL-5 ispoljava efekte u kasnoj fazi diferencijacije. IL-5 dovodi do akutnog oslobađanja zrelih eozinofila iz koštane srži u cirkulaciju. Sva tri citokina imaju zajednički lanac za svoje receptore preko kojeg dovode do produženog preživljavanja, aktivacije, migracije degranulacije eozinofila sa oslobađanjem specifičnih proteina granula, slobodnih kiseoničkih radikala i lipidnih medijatora, što ima za posledicu tkivno oštećenje kao sastavni deo alergijske inflamacije (*Ohta and Yamashita, 1999*). Produženo preživljavanje eozinofila delovanjem IL-3, IL-5 i GM-CSF posledica je aktivacije Lyn i Syk tirozin kinaza. Povećan broj eozinofila, koji se sreće u alergijskim bolestima, posledica je povećanja nivoa produkcije i prelaska eozinofila iz koštane srži u perifernu cirkulaciju (*Elsner, 1999*). Migracija eozinofila iz cirkulacije u tkiva obuhvata stepenastu interakciju između eozinofila i endotelnih ćelija. Ovi koraci se odvijaju preko adhezivnih molekula na

endotelnim ćelijama i odgovarajućih molekula na eozinofilima što je praćeno prolaskom eozinofila između endotelnih ćelija (*Rothenberg, 1998*). Aktivisani eozinofili produkuju brojne citokine koji ispoljavaju:

- a) proinflamatorni efekat (IL-1, IL-6, IL-8 i TNF- $\alpha$ ),
- b) imunoregulacioni efekat (IL-2, IL-4, IL-10, IFN- $\gamma$ ),
- c) efekat faktora rasta eozinofila (IL-3, IL-5 i GM-CSF), i
- d) efekat remodelisanja tkiva (TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta$  i PDGF- $\beta$ ) (*Rothenberg, 1998; Weller, 1991*).

### C. Mast ćelije

Uloga mast ćelija u astmi je jedinstvena, oslobađanjem brojnih medijatora koji ispoljavaju snažno bronhokonstriktorno, sekretagogeno i vazooaktivno dejstvo, pokreću tzv. rani astmatični odgovor. Pomoću specifičnih mehanizama utiču i na tzv. kasni astmatični odgovori ali i na proces remodelisanja disajnih puteva (*Wilson and Li, 1998*).

Mast ćelije se razvijaju od prekursorskih CD34<sup>+</sup> ćelija koštane srži pod delovanjem SCF (koji izlučuju ćelije strome koštane srži), IL-3 i IL-6. SCF, osim pokretanja procesa diferencijacije i proliferacije, dovodi i do produženog preživljavanja usled supresije procesa apoptoze. Takođe, ovaj citokin vrši aktivaciju mast ćelija koje sekretuju medijatore, citokine, proteolitičke enzime i metabolite arahidonske kiseline (*Ligotfis et al., 1997*). Aktivacija mast ćelija imunološkim i neimunološkim putem dovodi do brzog oslobađanja velikog broja performisanih citokina, čiji su efekti prikazani u tabeli 1. Izlučeni IL-16 ispoljava hemataksični efekat prema CD4<sup>+</sup>T ćelijama. Hisfamin dovodi do daljeg oslobađanja TL-16 iz CD5<sup>+</sup>T ćelija i ćelija bronhijalnog epitela, što objašnjava perzistentnu infiltraciju CD4<sup>+</sup>T ćelijama na mestu alergijske inflamacije (*Mekozi and Metcalfe, 1999*).

### Hemokini

Hemokini pripadaju grupi hemotaksičnih citokina (molekulske mase 8-10 kD) sa funkcijom regulacije kretanja ćelija inflamacije (*Alam, 1997*). Na osnovu položaja cisteinskih rezidua hemokini su svrstani u 4 podklase (familije): CC, CXC, CX3C i C hemokini. Biološke efekte hemokini ispoljavaju vezivanjem za specifični receptor. Najveći broj hemokinskih receptora pripada grupi receptora koji su vezani za G protein. Vezivanje hemokina za receptor proizvodi niz biohemijskih reakcija: povećanje koncentracije slobodnog intracelularnog kalcijuma, aktivacija fosfolipaze A<sub>2</sub> i C, protein kinaze C, fosfatidilinozitol-3-kinaze, STAT proteina i tirozin kinaza (*Nickel and Beck, 1999*). U toku nekoliko sekundi od vezivanja



hemokina nastaje impresivna promena oblika leukocita sa formiranjem i retrakcijom lamelipodija koje služe za ćelijsko kretanje (tabela 1).

*Tabela 1. Efekti citokina mast ćelija*

Pojačana produkcija IgE	IL-4 i IL-13
Proinflamatorni efekat	
a) hemotaksija i aktivacija granulocita	a) IL-3, IL-5, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , LTC. RANTES:
b) povećanje ekspresije adhezivnih molekula na endotelnim i epitelnim ćelijama	b) IL-4, IL-5. TNF-a, LTC:
c) hemotaksija CD4+ T ćelija	c) IL-16
Remodulisanje tkiva	
c) stimulacija rasta fibrobiasta	c) IL-4, INF-a, BFGF

Hemokini u astmi ispoljavaju nekoiiko važnih efekata: hemotaksija ćelija inflamacije, aktivnost oslobađanja histamina i aktivacija eozinofila (tabela 2).

*Tabela 2. Hemokini i njihovi izvori u astmi*

Hemokin	Ćelijski tip
IL-5, MCP-1, MCP-3, MCP-4, RANTES. eotaksin	Bronhijalni epitel
Eotaksin, MCP-1	Fibroblasti pluća
RANTES. eotaksin, Makrofagni hemokin (MCD)	Glalkomišične ćelije
Eotaksin	Endotelne ćelije
Eotaksin. MDC, MCP. IL-8. MIP-1a	Alveolarne makrofagnc ćelije
MCP-1, RANTES, eotaksin	Eozinofili
eotaksin	Limfociti

1. Većina članova CC podklase hemokina ispoljava hemotaksičnu aktivnost prema monocitima, limfocitima i eozinofilima. Strukturne i zapaljenske ćelije u disajnim putevima astmatičara pojačano izlučuju CC hemokine koji su od značaja za nakupljanje eozinofila: eotaksin, eotaksin 2, eotaksin 3, RANTES, Monocitni hemotaksični protein-2 (MCP-2), MCP-3. MCP-5 i Makrofagni inflamacijski protein-1 alfa (MIP-1a).

2. Određeni hemokini dovode do degranulacije bazofila nezavisno od IgE mehanizma: eotaksin, MCP-1, MCP-3, MTP-1a, RANTES i MCP-2.

3. Aktivacija eozinofila ima odlučujuću ulogu u alergijskoj inflamaciji u astmi. RANTES, MCP-3 i MCP-4 dovode do sekrecije glavnog baznog proteina (MBP), eozinofilnog katjonskog proteina (ECP) i pojačane produkcije reaktivnih metabolita kiseonika (*Honey and Zlotnik, 1999; Hamid and Minshall 2000*).

Interleukin-8, koji pripada CXC familiji hemokina, ispoljava snažan efekat hemotaksije i aktivacije neutrofila sa oslobađanjem lizozomalnih enzima (*Nickel and Beck, 1999*).

### Remodulisiranje disajnih puteva

Remodulisiranje disajnih puteva predstavlja dinamičan proces koji dovodi do strukturnih promena disajnih puteva astmatičara i posledica je istovremenih procesa oštećenja i reparacije koji se sreću u sklopu zapaljenjskog procesa (*Fish and Pefers, 1999*). Oštećenje tkiva, koje nastaje u toku hronične inflamacije, istovremeno pokreće proces reparacije koji može da ima dva ishoda: 1) regeneratio ad integrum- sa potpunim oporavkom, i 2) zamena oštećenog tkiva ožiljkom. U strukturne promene, koje se sreću u malim i velikim disajnim putevima astmatičara. spadaju: 1) subepitelna fibroza sa nagomilavanjem intersticijskog kolagena tip III i V i fibronektina u retikularnom sloju neposredno ispod prave bazalne membrane, što ukazuje na hronicitet zapaljenjskog odgovora; 2) hipertrofija i hiperplazija glatkih mišića; 3) formiranje novih krvnih sudova; 4) povećanje mase submukoznih žlezda i 5) povećanje broja peharastih ćelija u epiteiu, što sve zajedno dovodi do zadebljanja bronhijalnog zida (*Roche, 1998*). Ove strukturne promene doprinose ireverzibilnoj komponenti bronhopneumonije i BHR astmatičara. Aktivirane epitelne ćelije, ali i ćelije koje sačinjavaju zapaljenjski infiltrat izlučuju:

1. Faktore rasta: TGF- $\beta$ , PDGF i IGF- 1;

2. Medijatore: endotelin-1, histamin i triptaza, i

3. Citokine: IL-6, GM-CSF IL-11, koji učestvuju u procesu remodeliranja zida bronhija.

Delovanjem ovih faktora nastaje proliferacija i aktivacija miofibroblasta sa povećanom sintezom i taloženjem komponenti ekstracelularnog matriksa (ECM), proliferacijom glatkih mišića i angiogenezom (tabela 3). (*Hamid and Minshall, 2000; Vignola et al., 1998*).

Tabela 3. Efekti faktora rasta u procesu remodelisanja disajnih puteva

Citokin	Ćelijski izvor	Biološki efekti
TGF-b	Bronhijalni epitei, eozinofili, fibroblasti, alveolarne makrofagne ćelije	Hemotaksija, aktivacija i proliferacija fibroblasta, pojačana sinteza kolagena, proliferacija glatkih mišića. inhibicija rasta epitelnih ćelija
PDGF	Bronhijalni cpitel, eozinofili, alveolarne makrofagne ćelije	Hemotaksija, aktivacija i proliferacija i fibroblasta, pojačana sinteza komponenti ekstracelularnog matriksa, proliferacija glatkih mišića
EGF	Bronhijalni epitel, trombociti. endotelne ćelije, alveolarne makrofagne ćelije	Migracija i proiferacija epitelnih ćelija, pojačana sinteza fibronektina, proliferacija glatkih mišića i angiogeneza
TGF	Bronhijalni epitel, glatki mišići	Proliferacija fibroblasta, pojačana sinteza kolagena, proliferacija glatkih mišića
GM-CSF	Glatki mišići, bronhijalni epitel, fibroblasti i T-ćelije	Aktivacija i produženo preživljavanje eozinofila, stimuliše produkciju TGF-b
TL-1 1	Eozinofili, bronhijalni epitel, fibroblasti	Stimuliše nakupljanje fibroblasta i miofibroblasta, pojačava produkciju kolagena lip III

#### Literatura

*Holgate, ST.* (1999). Genetic and environmental interaction in allergy and aslhma. T. Allergy Clin. Tmmunol., 104. 1 139-1 146.

*Kuby, J.* (1997). Cytokines, in: Kuby . J (cd). Immunology WH Freeman and Company. New York, 313-334.

*Peakman, M. and Vergani, D.* (1997). Innate immunity II: cellular mechanisms. in: Peakman M., Vergani D. (eds). Basic and Clinical Immunology. Churchill Livingstone. New York, 21-32.

*Borish, L. and Rosenwasser, LJ.* (1996). Update on cytokines. J. Allergy Clilu. Immunol., 97, 719-733.

*Dukanović, R. et al.* (1990). Mucosal inflammation in asthma. State of the art. Am. Rev. Respir. Dis., 142, 434-457.

*Barnes, PJ., Dukanović, R. and Holgate, ST.* (1990). Asthrna. Pathogenesis, in: Brewis RAL, Corrin B., Geddes DM., et al (cds.) Respiratory Medicine. Volume 2. WB Saunders Company Ltd. London, 1 108-1153.

*Umetsu, DT. and de Kruyff, RH.* (1997). Th<sub>1</sub> and Th<sub>2</sub> CD<sup>4+</sup> cells in human allergic diseases. J. Allergy Clin. Immunol., 100, 1-6.

*Abbas, A. Murphy, KM. and Sher, A.* (1996). Funcnional diversity of helperT-lymhocytes. Nature, 383, 787-793.

*Romagani, S.* (1998). The Th<sub>2</sub> hypothesis in allergy - "Eppur si mouve". Allergy Clin. Immunoi. Inter., 10. 158-165.

- Romagnani, S.* (1997). Th1/Th2 paradigm. *Immunol. Today*, *18*, 263-267.
- Haas, H., Falcone, FH., Holland, MJ.* et al. (1999). Early Interleukin-4: its role in the switch towards a Th2 response and IgE-mediated allergy. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, *119*, 86-94.
- Kalish, RS. and Askenase, PW.* (1999). Molecular mechanisms of CD8+ cell-mediated delayed hypersensitivity: implications for allergies, asthma and autoimmunity. *J. Allergy Clin. Immunol.*, *103*, 192-199.
- Holt, PG., Macaubas, C, Prescott, SL. and Sly, PD.* (1999). Microbial stimulation as aetiological factor in atopic disease. *Allergy*, *54*, S12-S16.
- Martinez, FD. and Holt, PG.* (1999). Role of microbial burden in aetiology of allergy and asthma. *Allergy*, *354* (suppl II), S 12-S15.
- Huang, SK.* (1998). Molecular modulation of allergic responses. *J. Allergy Clin. Immunol.*, *102*, 887-892.
- Bonnefoy, JY., Gauchat, JF., Lecoanet-Henchoz, S.* et al. (1996). Regulation of human IgE synthesis. *Ann. NY Acad. Sci USA*, *796*, 59-71.
- Hershey, GKK., Friedrich, MF., Esswein, LA.* et al. (1997). The association of atopy with a gain of function mutation in the subunit of interleukin-4 receptor. *N. Engl. J. Med.*, *333*, 1720-1725.
- Barnes, KC. and Marsh, DG.* (1998). The genetics and complexity of allergy and asthma. *Immunol. Today*, *19*, 325-332.
- Hamid, QA. and Minshall, EM.* (2000). Molecular pathology of allergic disease. 1: Lower airway disease. *J. Allergy Clin. Immunol.*, *105*, 20-36.
- De Vries, JE. and Carhallido, JM.* (1999). Aversal G receptors and cytokines involved in allergic Th2 cell responses. *J. Allergy Clin. Immunol.* *103*, 492-496.
- Corry, DB.* (1999). IL-13 in allergy: homeostasis. *Curr. Opin. Immunol.*, *11*, 610-614.
- Suzanne Fishman, S., Hobbs, K. and Borish, L.* (1996). Molecular biology of cytokines in allergic diseases and asthma. *Immunol. Allergy Clin. North America*, *16*, 613-642.
- Wardlaw, AJ.* (1999). Molecular basis for selective eosinophil trafficking in asthma: A multistep paradigm. *J. Allergy Clin. Immunol.*, *104*, 917-926.
- Ohta, K. and Yamashita, N.* (1999). Apoptosis of eosinophils and lymphocytes in allergic inflammation. *J. Allergy Clin. Immunol.*, *104*, 14-21.
- Elsner, J. and Kapp, A.* (1999). Regulation and modulation of eosinophil effector functions. *Allergy*, *54*, 15-26.
- Rothenberg, ME.* (1998). Eosinophilia. *N. Engl. J. Med.*, *338*, 1592-1560.
- Weller, PF.* (1991). The immunobiology of eosinophils. *N. Engl. J. Med.*, *324*, 1110-1118.
- Wilson, JW. and Li, X.* (1998). The role of mast cells in asthma. *Clin. Asthma Rev.*, *2*, 153-159.
- Vligofitis, H., Worobec, AS. and Metcalfe, DD.* (1997). The protooncogene c-kit and c-kit ligand in human disease. *J. Allergy Clin. Immunol.*, *100*, 435-440.
- Mekori, JA. and Metcalfe, DD.* (1999). Mast cell-T-cell interactions. *J. Allergy Clin. Immunol.*, *104*, 517-523.
- Alam, R.* (1997). Chemokines in allergic inflammation. *J. Allergy Clin. Immunol.*, *99*, 725-728.

*Nickel, R., Beck, L.A. et al.* (1999). Chemokines and allergic diseases. *J. Allergy Clin. Immunol.*, *104*, 723-742.

*Homey, B. and Zlotnik, A.* (1999). Chemokines in allergy. *Clin. Opin. Immunol.*, *11*, 626-634.

*Fish, J.E. and Peters, S.P.* (1999). Airway remodelling and persistent airway obstruction in asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, *104*, 509-516.

*Roche, W.R.* (1998). Inflammatory and structural changes in the small airways in bronchial asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, *157*, S191-S194.

*Vignola, M.A., Chanez, P., Chiappara, G. et al.* (1998). Growth factors in the remodelling of asthma. *ACI International.*, *10*, 149-153.

## CYTOKINES ET HEMOKINES DANS L'ASTHME

Miloš FILIPOVIĆ, Slojan RADIĆ et Boris ĐINĐIĆ

*Institut pour les maladies pulmonaires du Centre clinique et le Institut de la physiologie de la Faculte de Medecine de Niš*

Cytokines sont les proteines regulateurs avec le poids moleculaire tres bas et dont le role est dans la communication intracellulaire. Ils manifestent les caracteristiques suivantes: pleiresistance, synergisme, antagonisme, inulilite et l'activite autocrine, paracrine et endocrine. L'activite d'un cytokine peut actionner la liberation d'un autre cytokine. C'est pourquoi que l'asthme est une maladie immunologique les cytokines ont un role singulier dans la regulation du proces inflammatoire qui se forme dans le poumons. Les divers cytokines agissent dans un filet complexe qui detemine la nature et la chronicite du proces asthmatique inflammable. Th<sub>2</sub> lymphocytes synthetent II-4, II-5, II-9, II-10, II-13 et GM-CSF qui participent dans le proces de la preinclusion de l'izotype de l'immunoglobuline des cellules B avec la production IgE, dans le maintien de la population des cellules Th<sub>2</sub>, cellules avec la production renforcee des cytokines codes par soi-disant, le groupe genetique II-4 ainsi que l'attrance, la prolongation et la survivance des mast cellules. basophiles et eozophiles. Hemokines sont des petites proteines classees en quatre sousgroupes: CC, CXC, C et Cx3C a la base de la position de deux premiers cysteines dans leurs secances. Les membres de la sousgroupe CC amenant a l'attrance et des T lymphocytes ainsi que la degranulation des basophiles et des mast cellules independamment du mecanisme IgE.

*Les mots c.les:* Cytokines, hémokines, asthme, Th<sub>2</sub> lymphocytes, eosinophiles

## CYTOKINES AND HEMOKINES IN THE ASTHMA

Miloš FILIPOVIĆ, Stojan RADIĆ and Boris ĐINĐIĆ

*Institute for Pulmonary Diseases of the Clinic Center and Institute for Pathological Physiology of the Faculty of Medicine, Niš*

The cytokines are regulatory proteins of low molecular weight whose role is in inter-cellular communication. They exhibit the following characteristics: pleiotropism, synergism, antagonism, redundancy, as well as autocrine, paracrine and endocrine action. The activity of one cytokine can start the release of another cytokine. Since asthma is an immunological disease the cytokines have a unique role in regulating the inflammatory process induced in the lungs. Various cytokines act in a complex network and that is crucial for determining the nature and the chronic occurrence of an asthmatic inflammatory process. The Th<sub>2</sub> lymphocytes do a synthesis of IL-4, IL-5, IL-9, IL-10, IL-13 and GM-CSF involved in the process of joining the B-cells immunoglobulin isotype with the IgE production, maintain the Th<sub>2</sub> cell population with increased cytokines' production encoded by the so-called IL-4 genetic group as well as attraction and prolongation of the cell mast, basophils and eosinophils' survival. The chemokines are small proteins classified into four subclasses, namely CC, CXC, C and Cx3C on the basis of the first two cysteine positions in their sequences. The members of the CC subclass lead to attraction and activation of basophils, eosinophils, monocytes and T-lymphocytes as well as degranulation of basophils and cell mast independently of the IgE mechanism.

*Key words:* Cytokines, chemokines, asthma, Th<sub>2</sub> lymphocytes, eosinophils

Autor: Dr sci Miloš Filipović, pulmolog, Zavod za plućne bolesti Kliničkog centra u Nišu; kućna adresa: Niš, Božidara Adžije 6K/12.

(Rad je Uredništvo primilo 19. februara 2001. godine)

